

귀리 Ethyl acetate 분획물의 예쁜 꼬마선충 내의 항산화 효과

권강무¹ · 김준형² · 양재현³ · 기별희³ · 황인현¹ · 김대근^{1*}

¹우석대학교 약학과, ²우석대학교 식품생명공학과, ³아이나라

Antioxidant Activity of Ethyl acetate Fraction of Oat in *Caenorhabditis elegans*

Kang Mu Kwon¹, Jun Hyeong Kim², Jae Heon Yang³, Byeolhui Ki³,
In Hyun Hwang¹, and Dae Keun Kim^{1*}

¹College of Pharmacy, Woosuk University, Wanju, Jeonbuk 55338, Korea

²Department of Food and Biotechnology, Woosuk University, Wanju, Jeonbuk 55338, Korea

³Ainara, Jeonju, Jeonbuk 54994, Korea

Abstract – Oat, the seeds of *Avena sativa* L. (Gramineae), is an important dietary staple for people in many countries. Previous studies reported that *A. sativa* had various pharmacological effects such as anti-inflammatory, antitumor, neurotonic, and anti-spasmodic activities. In this study, *Caenorhabditis elegans* model system was used to investigate the antioxidant activity of methanol extract of oat. The ethyl acetate soluble fraction of the oat methanol extract showed the best DPPH radical scavenging activity. The ethyl acetate fraction was measured for the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase, and oxidative stress tolerance by using *C. elegans* along with reactive oxygen species (ROS) level. In addition, to confirm that the regulation of the stress response gene is responsible for the increased stress tolerance of *C. elegans* treated by the ethyl acetate fraction, SOD-3 expression was measured using GFP-expressing transgenic worm. As a result, the ethyl acetate fraction increased SOD and catalase activities, and decreased ROS accumulation in a dose-dependent manner. In addition, the ethyl acetate fraction-treated CF1553 worm showed higher SOD-3::GFP intensity compared to the control.

Keywords – *Avena sativa*, *Caenorhabditis elegans*, Antioxidant activity, SOD, Catalase

화학적으로 활성산소는 짝을 이루지 않은 전자를 갖는 분자로서 활성산소가 세포 구성물과 빠르게 화학적인 반응하는 매우 활성화된 분자임을 의미한다.¹⁾ 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 모든 종류의 세포에서 생성되는 과산화수소(H₂O₂), hydroxyl radical(OH[·]), singlet oxygen(¹O₂), 과산화물(O^{2·}) 등의 불안정한 분자들이다. 활성 산소종에 대한 연구는 오랫동안 수행되어 왔으며 그 결과에 대해서는 여전히 논쟁의 여지가 있다. 인체 시스템과 면역 강화에 활성산소가 유용하지만 생체 조직과 장기 손상을 일으키는 등의 해로운 영향을 가지고 있어 이러한 상반된 결과는 활성산소의 억제제나 촉진제를 이용하여 활성산소와 관련된 질병치료에 초점을 맞춘 연구에서 더욱 논란이 되고 있다. 그럼에도 불구하고 세포 내의 미토콘드리아에서 주로 생성되는

활성산소는 과도하게 생성되어 제때에 소거되지 못하는 경우에는 신체에 산화적 손상을 초래하여 세포 내 단백질이나 지질, 핵산 등을 손상시키는 원인이 되어 암을 비롯한, 파킨슨병, 알츠하이머병 등을 유발하는 것으로 보고되어 있다.²⁻⁴⁾

인체 내에서 생성되는 활성 산소종을 비롯하여 주위 환경에서 접하는 공해물질과 독성물질 등의 각종 오염물질은 활성산소종의 생성을 증가시키고 인체의 malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase(SOD), glutathione(GSH)과 glutathione S-transferase(GST) 등과 같은 항산화 시스템에 악영향을 끼쳐 항산화 능력의 결핍을 야기하게 되어 결과적으로 외부로부터 부족한 부분의 항산화제 공급이 필요하게 된다.^{5,6)} 천연 항산화제로 비타민 C를 비롯한 카로테노이드, 토코페롤, 폴리페놀 등이 많이 이용되고 있으며, 여전히 부작용이 작고 장기적으로 사용할 수 있는 유용한 천연 항산화제의 개발이 필요한 실정이다.⁷⁾

*교신저자(E-mail): dkkim@woosuk.ac.kr
(Tel): +82-63-290-1574

귀리(*Avena sativa* L., Gramineae)는 전통적으로 중요한 작물 중의 하나로 단백질, 식이섬유, 미네랄 및 β -glucan 등 유용한 영양분을 함유하고 있는 곡물이다. 귀리에 대한 연구는 섬유나 폴리페놀성 화합물의 암을 비롯한 만성 퇴행성 질환에 대한 보호효과등 많은 연구가 보고되고 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 본 연구는 귀리 methanol 추출물을 용매로 계통분획하여 각 분획물에 대해 vitamin C를 대조군으로 하여 DPPH free radical 소거능 실험을 하여 가장 강한 소거능을 보인 ethyl acetate 분획물을 확보하여 이 분획에 대하여 항노화 실험모델로 잘 알려진 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)을 이용한 산화적 스트레스에 대한 저항 효능을 확인하였다. 또한 산화적 스트레스에 저항할 수 있는 단백질의 증가 여부를 확인하기 위하여 형질전환 mutant를 이용한 유전자 발현 증가 여부 실험을 통하여 몇가지 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용한 귀리는 시중에서 구입하여 김대근 교수가 검증한 후에 세말로 분쇄하여 사용하였으며, 표준품은 우석대학교 약학대학 생약표본실에 보관하고 있다(WS-21-003).

추출 및 분획 - 분쇄한 귀리 600 g을 methanol로 진탕하면서 3시간씩 50°C에서 각각 2회 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 귀리 methanol 엑스 약 27.4 g을 얻었으며, 이 methanol 엑스를 증류수로 현탁시켜 methylene chloride(13.3 g), ethyl acetate(0.5 g) 및 *n*-butanol(2.8 g)의 순으로 용매 분획하여 각각의 분획물을 얻었다.

DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성¹¹⁾ - 96 well plate에 시료를 ethanol로 각 농도별로 조제한 용액에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)(ethanol)을 일정량씩 가하였다. 10초간 진탕한 후 25°C에서 30분간 방치한 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조약물은 L-ascorbic acid를 사용하였으며, 항산화효과는 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도와 비교하여 그래프로 나타내었고, 각 시료에 대한 활성은 3회 반복하여 측정하였다.

예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)의 배양¹²⁾ - *C. elegans*는 *E. coli* OP50를 도말한 Nematode Growth Medium (NGM) agar plate에 20°C에서 배양 되었다. 각 시료는 DMSO를 용매로 한 stock solution 상태로 멸균된 NGM plates(at 50°C)에 첨가하였다. 최종 DMSO 농도는 모든 상태에서 0.1%(v/v)를 유지하였다.

선충 체내의 항산화 효소(SOD, catalase) 활성 측정^{13,14)} - 귀리시료를 농도별로 조제한 plate에 성장 단계가 동일한 N2 선충을 배양하였으며, 성체가 된 후 4일째에 선충을 모

아 M9 buffer로 3회 세척 후 분쇄하여 효소 활성 측정에 사용하였다(homogenization buffer: 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, pH7.5). SOD 활성은 Ibrahim등의 방법을 응용하여 측정하였다. 먼저 10 mM phosphate buffer(pH 8.0)를 용매로 반응혼합물(1.6 mM xanthine과 0.48 mM NBT 0.49 mL)를 만든 뒤 농도별 시료 10 μ L와 37°C에서 5분간 pre-incubation시켰다. 그 후 xanthine oxidase 100 μ L(0.05 U/mL)을 첨가하고 37°C에서 20분 동안 incubation시킨 다음 69 mM SDS로 반응을 멈추고 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catalase 활성은 Aebi의 방법을 응용하여 25 mM H₂O₂에 농도별 시료 50 μ L를 3분 동안 반응시키고 240 nm에서 흡광도를 측정하였다.

선충 세포 내 활성 산소종(ROS) 분석¹⁵⁾ - 선충 세포 내 활성 산소종은 2',7'-dichlorodihydro fluorescein diacetate (H₂DCF-DA)를 사용하여 측정하였다. 성장 단계가 동일한 선충을 농도별로 제조한 시료 plate에서 배양하였으며, 성체가 된 후 4일째 50 μ M juglone을 함유한 M9 buffer에 넣고 2 시간 노출시킨 뒤 96 well plate에 담긴 50 μ L M9 buffer에 5마리씩 옮겼다. 마지막으로 25 μ M H₂DCF-DA 50 μ L를 첨가한 뒤 여기 485 nm, 방출 535 nm에서 흡광도를 각 측정하였다.

산화적 스트레스 저항성 측정^{13,16)} - 성장 단계가 동일한 선충을 각 시료의 농도별로 제조된 plate에서 배양하였다(EDZ 250, 500 μ g/mL). 산화적 스트레스에 의한 내성은 기존 방법을 약간 변형하여 평가하였으며, 성체가 된 후 7일째에 일시적으로 선충을 1 mM juglone이 함유된 M9 buffer가 담긴 96 well plate에 옮기고 시간 별로 생존율을 확인하였다.

형질전환 선충 내 SOD-3::GFP 형광 측정 - SOD-3::GFP를 포함한 형질 전환된 선충인 CF1553을 각 시료의 농도별로 제조된 배지에 넣어 배양하였다. 성체가 된 후 4일째에 사용하였으며, 선충은 sodium azide(4%)로 마취시켰고 GFP 발현은 형광 실체 현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 발현강도를 정량, 분석하기 위해 현미경을 이용한 사진 촬영과 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 분석하였으며, 모든 실험은 3회 반복하였다.

통계 분석 - 통계 자료의 값은 평균값 \pm 표준오차(mean \pm S.E.M.)로 표시 하였다. 그룹간의 통계적 유의성 검정은 Student's t-test를 통해서 분석하였고 선충의 연속적인 생존도는 Log-rank test 분석 방법을 이용하였다. p값은 * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

DPPH radical 소거능 - DPPH radical 소거능 분석은 실험에 사용된 귀리 추출물의 DPPH radical 소거 활성을 평

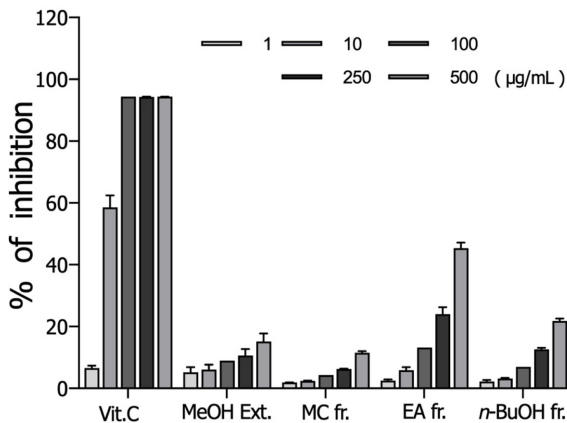


Fig. 1. DPPH radical scavenging effects of the methanol extract, and its fractions from the *A. sativa* seeds. MC: methylene chloride, EA: ethyl acetate.

가하기 위해 수행되었다. 귀리 methanol 엑스 및 분획물의 DPPH radical 소거 효과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 ethyl acetate 분획물(IC₅₀ value, 784.2 µg/mL)이 대조군인 비타민 C(IC₅₀; 7.6 µg /mL)보다는 낮았으나 분획물 중 가장 높은 DPPH radical 소거효과를 보여주었다(Fig. 1).

항산화 효소(SOD, Catalase) 활성 증가 효능 - Xanthine oxidase의 효소반응 과정 중에 생성되는 superoxide anion을 활용하여 SOD의 활성을 측정 한 결과 Fig. 2A에서 나타난 바와 같이 귀리 ethyl acetate 분획물 투여군은 SOD의 활성을 농도의존적으로 증가시켰으며, ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군은 대조군과 비교하여 SOD 활성을 약 35.3% 정도

증가시켰다(***p*<0.001). 활성산소종인 hydrogen peroxide를 체내에서 대사시키는 catalase의 활성은 Fig. 2B에서 나타난 바와 같이 ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군이 대조군에 비해 catalase활성을 약 30.2% 정도 증가시켰다(***p*<0.01)(Fig. 2).

활성 산소종(ROS) 감소 효능 - 귀리 ethyl acetate 분획의 농도별 세포 내 활성 산소종의 감소 효능을 알아보기 위해 H₂DCF-DA와 선충 내부의 활성 산소종을 반응시켜 형광을 관찰하였다. 활성산소종 형광의 감소 폭은 대조군과 비교 하여 귀리 ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군에서 평균 약 14.1% (***p*<0.001) 활성산소종을 감소시키는 것으로 확인되었다(Fig. 3).

산화적 스트레스 저항성 증가 효능 - 귀리 ethyl acetate 분획을 juglone으로 산화적 스트레스를 유도한 선충의 생존율에 미치는 영향 평가실험에서 분획을 처리하지 않은 대조군 선충의 최고 생존시간은 24시간이었으나, ethyl acetate 분획 500 µg/mL 농도에서는 생존시간을 30시간으로 증가시켰다. 대조군의 평균 생존시간이 16.1±0.5시간이었으나 500 µg/mL 농도 처리군은 평균 생존 시간을 19.1±0.6시간으로 18.63%의 생존 시간을 향상시켰다(***p*<0.001)(Fig. 4, Table I).

형질 전환 선충 내 SOD-3의 발현 증가 효능 - 귀리 ethyl acetate 분획의 선충 내에서 산화적 스트레스에 저항하기 위한 단백질의 증가 여부를 확인하기 위해서 SOD발현 유전자의 증가 여부를 확인 하였다. SOD-3을 포함한 형질 전환 선충 CF1553을 사용하여 실험한 결과 CF1553 형질전환 선충에 귀리 ethyl acetate 분획 500 µg/mL 처리군이

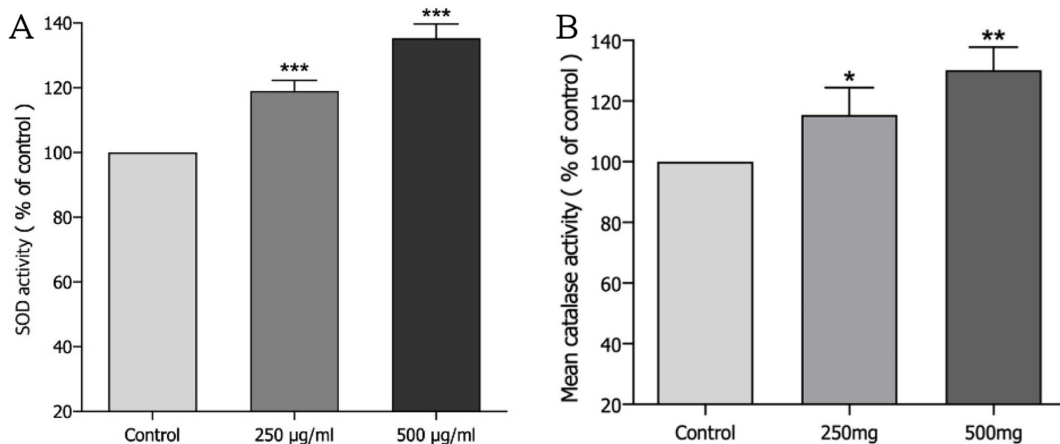


Fig. 2. Effects of ethyl acetate fraction of *A. sativa* seeds on the antioxidant enzyme activity of wild-type N2 nematode. (A) The enzymatic reaction of xanthine with xanthine oxidase was used to generate •O₂- and the SOD activity was estimated spectrophotometrically through formazan formation by NBT reduction. The SOD activity was showed as a percentage of superoxide-scavenged amount per control. (B) Catalase activity was calculated from the concentration of residual H₂O₂, as determined by a spectrophotometric method. The catalase activity was expressed in U/mg protein. Data are expressed as the mean ± S.E.M. of three independent experiments. Differences compared to the control were considered significant at **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001 by one-way ANOVA.

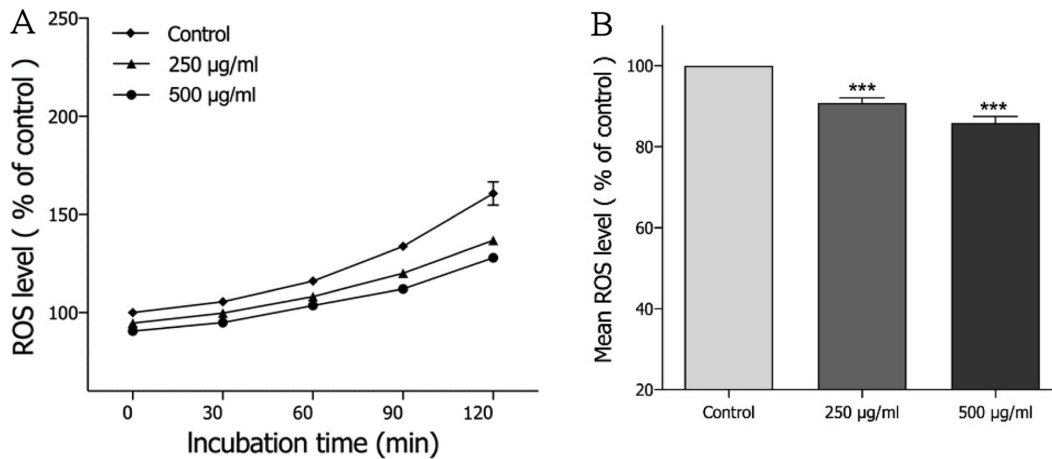


Fig. 3. Effects of ethyl acetate fraction of *A. sativa* seeds on the intracellular ROS levels of wild-type N2 nematodes. Intracellular ROS accumulation was examined in a microplate fluorescence reader at 535 nm (emission) and 485 nm (excitation). (A) Plates were read for 120 min. (B) The average percentages of intracellular ROS accumulation were presented. Differences compared with the control were considered significant at *** $p < 0.001$ by the one-way ANOVA.

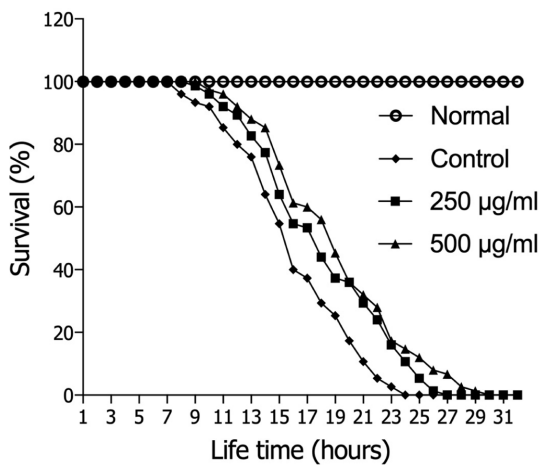


Fig. 4. Effects of ethyl acetate fractions of *A. sativa* seeds on the stress tolerance of wild-type N2 nematodes. For the oxidative stress assays, worms were transferred to 96-well plate containing 1 mM of juglone liquid culture, and then their viability was scored. Statistical difference between the curves was analyzed by log-rank test.

처리되지 않은 선충에 비해 높은 SOD-3::GFP 발현율(21.2%, * $p < 0.05$)을 보여 주었다(Fig. 5).

고찰

실험실에서 *E. coli*를 먹이로 할 때 대략 2-3주의 평균수명을 보이는 예쁜꼬마선충은 길이 2 mm 내외이며, 너비 50 µm 정도인 토양 선충의 한 종류이다. 수명이 짧으면서 번식률도 높고 다루기가 편하며, 투명하면서 현미경으로 관찰하기 쉬운 현재 다양한 생체 활성 연구에 널리 응용되고 있다. 특히 항산화제를 비롯한 수명연장과 관련된 각종 질환의 연구 모델이 확보되어 많은 연구에 이용되고 있다.^{17,18)} 본 연구는 귀리 methanol 추출물 분획의 DPPH radical 소거활성을 비교한 후 가장 높은 DPPH radical 소거활성을 보여준 ethyl acetate 분획에 대한 선충 내의 항산화 효과에 대한 실험을 하였다. Ethyl acetate 분획이 선충 내의 항산화 효소인 SOD 및 catalase의 활성을 농도 의존적으로 높이는 것으로 확인하였으며, juglone 처리한 산화적 스트레스 조건하에서는 선충 세포 내 활성 산소종의 강한 축적 억제 효능을 나타내었다. 또한, 귀리 ethyl acetate 분획물 처리를 한

Table I. Effects of ethyl acetate fraction of *A. sativa* seeds on the oxidative stress tolerance of *C. elegans*

Stress condition	Fraction	Mean lifespan (h)	Maximum lifespan (h)	Change in mean lifespan (%)	Log-rank test
1 mM Juglone	Control	16.1 ± 0.5	24	-	-
	250 µg/mL	18.1 ± 0.5	27	12.4	** $p < 0.01$
	500 µg/mL	19.1 ± 0.6	30	18.6	*** $p < 0.001$

Mean lifespan presented as mean ± S.E.M data. Change in mean lifespan compared with control group (%). Statistical significance of the difference between survival curves was determined by log-rank test using the Kaplan-Meier survival analysis. Differences compared to the control were considered significant at * $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$.

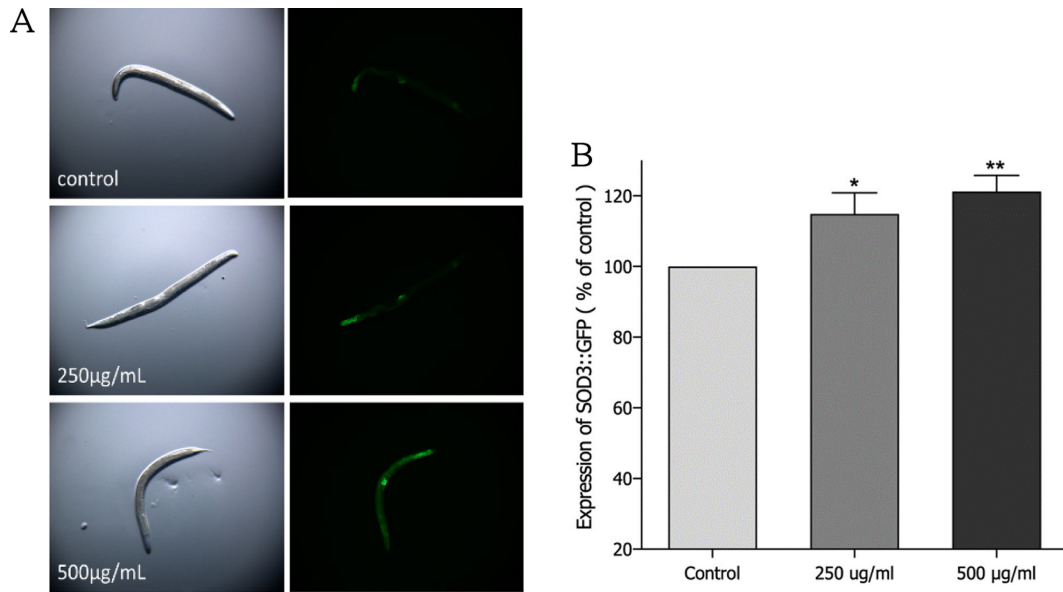


Fig. 5. Effect of ethyl acetate fraction of *A. sativa* seeds on the expression of SOD-3 was determined using transgenic nematodes. (A) Images of SOD-3::GFP expression of CF1553 worm in the presence or absence of ethyl acetate fraction. (B) The mean GFP intensity of mutant was represented as mean ± S.E.M. of values from 30 to 50 animals per each experiment. The GFP intensity was quantified using Image software by determining average pixel intensity. Data are expressed as the mean ± standard deviation of three independent experiments. Differences compared with the control were considered significant at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ by one-way ANOVA.

선충의 스트레스 저항능력에 미치는 영향을 확인하는 실험에서는 juglone으로 유도한 산화적 스트레스 조건하에서 대조군과 비교하여 분획물 처리군의 생존율이 농도 의존적으로 크게 증가하는 것이 확인되었다. 이와 관련된 mutant(GFP-fused transgenic strain, CF1553)를 이용하여 산화적 스트레스 저항성 단백질 발현 여부를 확인한 실험에서는 SOD-3::GFP의 증가를 보여주는 형광의 양이 상당히 증가하여 산화적 스트레스에 저항할 수 있는 단백질의 발현이 증가되었음이 확인되었다.¹⁹⁾

활성산소는 미토콘드리아의 세포 호흡을 통해 생성되며 또한 각종 외부 공해요인 등에 의해 발생하여 항산화 방어 체계에 불균형을 초래하고 인체 각 조직의 정상적인 기능에 영향을 미쳐 당뇨, 심혈관 질환, 신장, 폐, 골격근 질환 등 노화와 관련된 질환을 일으키는 원인으로 보고 되고 있다.²⁰⁾ 귀리 ethyl acetate 분획물은 선충 체내의 SOD나 catalase 등의 항산화 효소의 활성을 증가시켰으며, 활성 산소종의 축적을 억제하고 산화적 스트레스에 대한 저항력을 높여 주었는데 이는 선충의 수명연장이나 노화 지연에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측된다.²¹⁾ 이는 기존의 연구에서 귀리의 avenanthramide 성분이나 귀리 추출물의 항산화 효과와 관련된 보고와 맥락을 같이하는 연구결과이다.^{22,23)} 추후에 귀리 ethyl acetate 분획물에 대한 물질 분리 및 단일 물질 수준에서의 예쁜꼬마선충 내의 항산화 활성 연구 및 기전 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

귀리 ethyl acetate 분획은 DPPH free radical 소거활성을 농도 의존적으로 보여주었으며, 예쁜꼬마선충을 이용한 항산화 실험에서도 SOD 및 catalase의 활성을 농도 의존적으로 높이는 것을 확인하였다. 선충 세포 내의 활성 산소종의 발생을 농도 의존적으로 감소시켰으며, juglone 투여로 인한 산화적 스트레스 조건하에서는 선충의 생존율을 농도 의존적으로 증가시켰다. 이와 관련하여 형질전환된 mutant인 GFP-fused transgenic strain CF1553을 이용한 산화적 스트레스 저항성 단백질 발현 실험에서 산화적 스트레스에 저항성이 있는 단백질 발현이 증가됨을 확인하였다. 이러한 결과는 귀리 ethyl acetate 분획은 항산화 및 이와 관련된 질병의 예방 및 치료를 위한 자원으로서의 가치가 있을 것으로 사료된다.

사사

이 논문은 2021년도 우석대학교 LINC+사업단(2021년 산학공동기술개발과제 지원사업)의 지원을 받아 수행된 연구로 이에 감사 드립니다.

인용문헌

1. Ramsay, R. R. (2019) Electron carriers and energy conser-

- vation in mitochondrial respiration. *Chem. Texts.* **5**: 9.
2. Shadel, G. S. and Horvath, T. L. (2015) Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell* **163**: 560-569.
 3. Yang, S. and Lian, G. (2020) ROS and diseases: role in metabolism and energy supply. *Mol. Cell Biochem.* **467**: 1-12.
 4. Prasad, S., Gupta, S. C. and Tyagi, A. K. (2017) Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer Lett.* **387**: 95-105.
 5. Eftekhari, A., Dizaj, S. M., Chodari, L., Sunar, S., Hasanzadeh, A., Ahmadian, E. and Hasanzadeh, M. (2018) The promising future of nano-antioxidant therapy against environmental pollutants induced-toxicities. *Biomed. Pharmacother.* **103**: 1018-1027.
 6. Liu, J., Xie, M., Li, X., Jin, H., Yang, X., Yan, Z., Su, A. and Qin, B. (2018) Main allelochemicals from the rhizosphere soil of *Saussurea lappa* (Decne.) Sch. Bip. and their effects on plants' antioxidase systems. *Molecules* **23**: 2506.
 7. Heś, M., Dziejczak, K., Górecka, D., Jędrusek-Golińska, A. and Gujska, E. (2019) *Aloe vera* (L.) Webb.: Natural sources of antioxidants - A review. *Plant Foods Hum. Nutr.* **74**: 255-265.
 8. Yan, H. and Mao, P. (2021) Comparative time-course physiological responses and proteomic analysis of melatonin priming on promoting germination in aged oat (*Avena sativa* L.) seeds. *Int. J. Mol. Sci.* **22**: 811.
 9. Turrini, E., Maffei, F., Milelli, A., Calcabrini, C. and Fimognari, C. (2019) Overview of the anticancer profile of avenanthramides from oat. *Int. J. Mol. Sci.* **20**: 4536.
 10. Kennedy, D. O., Bonnländer, B., Lang, S. C., Pischel, I., Forster, J., Khan, J., Jackson, P. A. and Wightman, E. L. (2020) Acute and chronic effects of green oat (*Avena sativa*) extract on cognitive function and mood during a laboratory stressor in healthy adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled study in healthy humans. *Nutrients* **12**: 1598.
 11. Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, Y. and Okuda, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autooxidation by tannins and flavonoids. V: radical scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 1919-1921.
 12. Brenner, S. (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**: 71-94.
 13. Mekheimer, R. A., Sayed, A. A. and Ahmed, E. A. (2012) Novel 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyridines and their fused ring systems attenuate oxidative stress and prolong lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *J. Med. Chem.* **55**: 4169-4177.
 14. Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* **105**: 121-126.
 15. Kim, H. N., Seo, H. W., Kim, B. S., Lim H. J., Lee, H. N., Park, J. S., Yoon, Y. J., Oh, J. W., Oh, M. J., Kwon, J., Oh, C. H., Cha, D. S. and Jeon, H. (2015) *Lindera obtusiloba* extends lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Prod. Sci.* **21**: 128-133.
 16. Lee, E. Y., Shim, Y. H., Chitwood, D. J., Hwang, S. B., Lee, J. and Paik, Y. K. (2005) Cholesterol-producing transgenic *Caenorhabditis elegans* lives longer due to newly acquired enhanced stress resistance. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **328**: 929-936.
 17. Kobet, R. A., Pan, X., Zhang, B., Pak, S. C., Asch, A. S. and Lee, M.-H. (2014) *Caenorhabditis elegans*: A model system for anti-cancer drug discovery and therapeutic target identification. *Biomol. Ther.* **22**: 371-383.
 18. Luo, S., Jiang, X., Jia, L., Tan, C., Li, M., Yang, Q., Du, Y. and Ding, C. (2019) In vivo and in vitro antioxidant activities of methanol extracts from olive leaves on *Caenorhabditis elegans*. *Molecules* **704**: 1-14.
 19. Motta, H. S., Roos, D., Tabarelli, G., Rodrigues, O. E. D., Ávila, D. and Quines, C. B. (2020) Activation of SOD-3 is involved in the antioxidant effect of a new class of β -arylchalcogenium azide compounds in *Caenorhabditis elegans*. *An. Acad. Bras. Cienc.* **92**(suppl 2): e20181147.
 20. Cabello-Verrugio, C., Simon, F., Trollet, C. and Santibañez, J. F. (2016) Oxidative stress in disease and aging: mechanisms and therapies 2016. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2017**: 4310469.
 21. Alugoju, P., VKD, K. S. and Periyasamy, L. (2018) Effect of short-term quercetin, caloric restriction and combined treatment on age-related oxidative stress markers in the rat cerebral cortex. *CNS Neurol Disord. Drug Targets* **17**: 119-131.
 22. Bratt, K., Sunnerheim, K., Bryngelsson, S., Fagerlund, A., Engman, L., Andersson, R. E. and Dimberg, L. H. (2003) Avenanthramides in oats (*Avena sativa* L.) and structure-antioxidant activity relationships. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 594-600.
 23. Song, S., Lee, Y. M., Lee, Y. Y. and Yeum, K. J. (2021) Oat (*Avena sativa*) extract against oxidative stress-induced apoptosis in human keratinocytes. *Molecules* **26**: 5564.

(2021. 12. 9 접수; 2021. 12. 13 심사;
2021. 12. 18 게재확정)